

EVALUACION DE ACTIVIDAD FUNGICIDA DE LA RESINA DE *Larrea tridentata* SOBRE *Alternaria solani*

Martha M. Guevara Martínez¹

Eugenio Guerrero Rodríguez²

José Luis Barragán Torres³

RESUMEN

Al evaluar las fracciones etanólicas y clorofórmicas en dosis de 2 000, 1 000, 500 y 250 ppm, se encontró que la fracción etanólica a 1 000 y 2 000 ppm, logran inhibir el desarrollo de *Alternaria solani*, aunque sólo por 8 días, ya que después de este período de tiempo, aun en las dosis de 2 000 ppm, continuó su desarrollo, aunque en bajos niveles; lo anterior indica que por la presencia de impurezas en la resina, los productos con actividad fungicida se degradan, esto ocurre aun cuando los extractos se mantengan en condiciones refrigeradas.

INTRODUCCION

Cada vez con mayor énfasis se han estado efectuando estudios con compuestos provenientes de plantas, para tratar de controlar organismos dañinos a la agricultura tales como: insectos, bacterias, hongos, etc., dado que se han encontrado resultados alentadores y a que el potencial de diversificación de compuestos químicos en las plantas es enorme. Además, en algunos casos se busca dar utilización a recursos vegetales con una amplia distribución, que ocupan grandes áreas geográficas y a las que no se les destina

1 Biol, 2. Ing.M.C. Maestros Investigadores del Depto. de Parasitología, Div. de Agronomía, UAAAN.

3 Tesista

explotación alguna, como es el caso de los recursos de las zonas áridas, donde se tiene entre otras muchas plantas a *Larrea tridentata* que ocupa el 25% de la superficie total de la República Mexicana, y se ubica en gran parte del desierto Chihuahuense.

El objetivo del presente trabajo consiste en determinar si la resina de la gobernadora presenta acción fungicida contra *Alternaria solani*, hongo que afecta fuertemente al cultivo de la papa.

REVISION DE LITERATURA

Mabry y Bohnstedt, citados por Campos (1979), reportan que alrededor del 50% del peso seco de las hojas de *L. tridentata* puede ser extraído como resina, la que tiene altas cantidades de aglicón-flavonoides, lignanos y ácido noraidroguayenético (NDGA), de este último contienen de un 5 a 10%.

A su vez, Timmerman citado por el mismo autor, menciona que esta planta tiene usos en medicina natural, potencial para usarse como forraje para ganado, y para uso industrial como antioxidante y como revelador en fotografía, entre otros.

Por lo que respecta a la actividad biológica en hongos, Delgado *et al.* citados por Hernández (1979), indican que *Rhizoctonia solani* fue inhibido en su crecimiento por NDGA a 500 y 1000 ppm. Además, Belmares *et al.* citados por Velázquez (1981), señalan que los extractos metanólico, clorofórmico y etanólico posterior al clorofórmico, comparados con NDGA, presentan igual actividad para inhibir el crecimiento de *R. solani* a 500 ppm, *Pythium* sp de 500 a 1 000 ppm, *Rhizopus nigricans* de 500 a 1000 ppm y de *Fusarium oxysporum* no se logró la inhibición total, ni aun a 1 000 ppm. El mismo Hernández reporta que, en colaboración con el Centro de Investigaciones Agrícolas del Norte, se evaluaron 2 extractos contra *Puccinia cabata*, y encontró que el etanólico curó por completo esta enfermedad del algodón; pero, otros estudios indicaron que tiene un bajo poder curativo y cierta acción preventiva.

Rodríguez (1980), reporta que las fracciones etanólicas y clorofórmicas a 1 000 ppm, lograron inhibir a *Phymatotrichum omnivorum* y Velázquez (1981) menciona que la fracción etanólica a 2 000 ppm, inhibe el desarrollo micelial de *Cytosporina* sp., estado sexual de *Eutypa armeniacae* y a la misma dosis también se lograron inhibir las ascosporas de este hongo.

MATERIALES Y METODOS

Este trabajo se realizó bajo condiciones de laboratorio, a través del medio papa dextrosa-agar (PDA) como campo de cultivo de *Alternaria solani*,

que se aisló de plantas de papa, variedad alfa y se identificó posteriormente. En la primera parte del estudio se contó con un total de 11 tratamientos con 5 repeticiones, cada una de las cuales consistió de una caja petri. Ocho tratamientos fueron de extractos de la resina: 4 que se extrajeron con cloroformo y se denominó fracción clorofórmica, y 4 que se extrajeron con etanol y se denominó fracción etanólica; ambos se evaluaron a dosis de 250, 500, 1 000 y 2 000 ppm; además, se contó con un testigo etanólico al que se le agregaron 15 ml de etanol, por ser la que se utilizó para disolver la cantidad mayor de ambos extractos (2 000 ppm), se añadió también, un testigo fungicida que consistió de Maneb 20 PH a dosis de 2 000 ppm, y se incluyó un testigo absoluto que consistió de sólo PDA.

En una derivación del anterior estudio, se utilizaron aquellos tratamientos con resina y el testigo fungicida, para sembrar a los 14 días en las áreas sin crecimiento del hongo, para observar si la resina, con el tiempo, no se degradaba (esto por la poca disponibilidad de resina). Una última parte consistió en afinar las dosis de la fracción etanólica, entre 500 y 1 000 ppm.

La forma de preparación del PDA, esterilización del material, etc. se realizó bajo las normas convencionales. La dilución de la resina se realizó agregando 15 ml de etanol en 2 gramos de la resina, tanto en la fracción etanólica como en la clorofórmica; bajo esta base se prepararon el resto de las concentraciones. La forma de agregar las dosis de las fracciones etanólicas y clorofórmicas, así como el fungicida, fue añadirlo al PDA cuando manifestaba una temperatura de 40 a 45°C, esto para evitar problemas de degradación por calor excesivo. Después de la gelificación se procedió a sembrar, en forma directa, esporas del hongo al centro de la caja petri, con ayuda de una aguja de disección; la efectividad de los diversos tratamientos sobre el hongo, que fue en base al desarrollo del diámetro del cultivo, se midió cada 24 horas durante 7 días. Todas las cajas petri, una vez sembradas con *A.solani*, se colocaron en una estufa donde se les mantuvo a una temperatura de 26 a 28°C. durante todo el tiempo del estudio.

RESULTADOS Y DISCUSION

Es conveniente señalar que el etanol, además de usarse en la fracción donde este disolvente se usó como extractor, se utilizó en la clorofórmica, ya que en pruebas previas se logró una mejor dilución de la resina clorofórmica, que usando cloroformo o bien acetona; es necesario señalar que, en esta resina, siempre quedaron pequeños grumos que no se disolvieron y quizás, en parte, a eso se deba que los resultados siempre fueron menores que en la resina etanólica, como en seguida se verá, ya que otros autores reportan que ambos extractos manifiestan igual efectividad.

Como se muestra en el Cuadro 1, en los únicos tratamientos donde *A. solani* se inhibió totalmente en su crecimiento, fue en el testigo fungicida, como era natural, y en la fracción etanólica a dosis de 2 000 y 1 000 ppm, aunque después de los 8 días, en esta última, se registra un pequeño crecimiento; en cambio, el tratamiento con 500 ppm presenta un desarrollo del 100%, en comparación al testigo-PDA, y a 250 ppm el crecimiento fue mayor.

Cuadro 1. Crecimiento de *Alternaria solani* en la primera siembra a través del tiempo. UAAAN. 1981.

Tratamientos y dosis en ppm	Desarrollo del diámetro en cm en días							
	1	2	3	4	5	6	7	8.5
Test — PDA	0.96	1.94	2.84	3.92	4.70	5.50	6.16	7.06
Test — etanólico	0.7	1.32	1.90	2.60	3.24	3.98	4.64	6.00
Test — fungicida	0	0	0	0	0	0	0	0
Fr. et. 2000	0	0	0	0	0	0	0	0
Fr. et. 1000	0	0	0	0	0	0	0	0.02
Fr. et. 500	0.06	0.06	0.10	0.20	0.34	0.42	0.52	0.70
Fr. et. 250	0.20	0.32	0.72	0.80	1.00	1.20	1.42	1.78
Fr. Clor. 2000	0.02	0.02	0.04	0.12	0.22	0.34	0.40	0.50
Fr. Clor. 1000	0.08	0.24	0.40	0.58	0.76	0.96	1.18	1.52
Fr. Clor. 500	0.10	0.28	0.66	0.76	0.98	1.10	1.42	1.74
Fr. Clor. 250	0.18	0.38	0.74	1.04	1.24	1.54	1.84	2.30

Fr. et. (fracción etanólica)

Fr. clor. (fracción clorofórmica)

Por el contrario, la fracción clorofórmica, aun a la dosis de 2 000 ppm, presenta un desarrollo ligeramente menor al de 500 ppm de la fracción etanólica y los tratamientos de 1 000 y 500 ppm, son similares al que presenta la fracción etanólica a 250 ppm y el tratamiento de 250 ppm de la fracción clorofórmica, presenta un desarrollo de la caloría equivalente a un 30% del testigo absoluto.

Por lo que respecta al testigo - etanólico, es notorio que a la dosis aplicada no afecta fuertemente el desarrollo del hongo, ya que presenta un avance constante aunque más lento y en la última lectura muestra un crecimiento 15% menor al del testigo PDA.

En lo que se refiere a la resiembra (Cuadro 2) que se realizó en las mismas cajas petri, a excepción de los testigos PDA y etanólico que presentaron un crecimiento abundante de *A. solani*, es notorio que ahora los tratamientos de 2 000 y 1 000 ppm de la fracción etanólica (ahora de 8 días de edad), presentan desarrollo desde el primer día después de la siembra, y a los 14 días

de ser puesto en las cajas petri; la dosis de 2 000 presenta una colonia con un desarrollo de 4%, si se compara con el testigo absoluto anterior en el resto de los tratamientos, sea fracción etanólica o clorofórmica, el desarrollo de las colonias siempre fue ligeramente mayor en la resiembra, a excepción de la dosis de 500 ppm de la fracción clorofórmica (Cuadro 3). Lo anterior indica que la resina de *L. tridentata*, si pierde efectividad, es decir, se degrada.

Cuadro 2. Crecimiento de *Alternaria solani* en la resiembra a través del tiempo. UAAAN. 1981.

Tratamientos y dosis en ppm	Desarrollo del diámetro en cm en días						
	1	2	3	4	5	6	7
Test — Fungicida	0	0	0	0	0	0	0
Fr. et. 2000	0.10	0.20	0.24	0.24	0.24	0.26	0.26
Fr. et. 1000	0.10	0.22	0.30	0.30	0.30	0.42	0.44
Fr. et. 500	0.08	0.18	0.28	0.42	0.52	0.62	0.66
Fr. et. 250	0.20	0.38	0.62	0.82	1.00	1.32	1.42
Fr. Clor. 2000	0.15	0.32	0.42	0.52	0.57	0.77	0.85
Fr. Clor. 1000	0.22	0.38	0.54	0.78	0.92	1.12	1.32
Fr. Clor. 500	0.26	0.54	0.64	0.84	1.02	1.30	1.34
Fr. Clor. 250	0.30	0.50	0.76	1.00	1.30	1.64	1.94

Fr. et. (fracción etanólica)

Fr. clor. (fracción clorofórmica)

Cuadro 3. Comparación del crecimiento en cm de *Alternaria solani* de la primera siembra y resiembra. UAAAN. 1981.

Tratamiento y dosis en ppm	1a. siembra 7 días	Resiembra 7 días
Testigo — PDA	6.16	—
Testigo — etanólico	4.64	—
Testigo — fungicida	0	0.00
Fr. et. 2000	0	0.26
Fr. et. 1000	0	0.44
Fr. et. 500	0.52	0.66
Fr. et. 250	1.42	1.42
Fr. Clor. 2000	0.40	0.85
Fr. Clor. 1000	1.18	1.32
Fr. Clor. 500	1.42	1.34
Fr. Clor. 250	1.84	1.94

Fr. et. (fracción etanólica)

Fr. Clor. (fracción clorofórmica)

dan paulatinamente los compuestos con acción fungicida, lo que permite que el hongo se desarrolle aun en las dosis que en un principio fueron excelentes.

El tiempo óptimo probable con acción sobre *A. solani*, quizá sea de sólo 7 días ya que, después de 8 días en la dosis de 1 000 ppm (Cuadro 1), se comienza a desarrollar la colonia. Es notorio que el testigo —fungicida— sigue sin presentar desarrollo del patógeno, lo que indica buena estabilidad a los 14 días después de aplicado.

Por último (Cuadro 4), en el estudio que se realizó para afinar la dosis que inhibe el desarrollo de *A. solani* entre 500 y 1 000 ppm, se nota que la dosis mayor, de esta fracción etanólica, sólo inhibió el desarrollo por 2 días y alcanzó, a los 8 días, un crecimiento igual al presentado en la resiembra a los 7 días; la dosis de 900 ppm inhibe al hongo, sólo durante un día y después permite su desarrollo que alcanza, lógicamente, un mayor crecimiento. El resto de los tratamientos presentan la misma tendencia; es decir, a menor dosis mayor crecimiento, es notorio que en la dosis de 500 ppm, el crecimiento de la colonia es aun mayor en los primeros estudios. Es obvio que en esta tercera etapa no se obtuvo la información esperada, pero, esto indica que la resina de la gobernadora está degradando aun cuando se tenga en condiciones refrigeradas. Lo anterior señala que el principio tóxico al hongo (NDGA) se debe de tener libre de impurezas para no afectar su estabilidad.

Cuadro 4. Crecimiento de *Alternaria solani* en la segunda siembra a través del tiempo. UAAAN. 1981

Tratamientos y dosis en ppm	Desarrollo del diámetro en cm en días							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Fr. et. 1000	0	0	0.08	0.18	0.26	0.30	0.38	0.46
Fr. et. 900	0	0.08	0.12	0.20	0.30	0.38	0.46	0.56
Fr. et. 800	0.08	0.18	0.26	0.36	0.46	0.54	0.64	0.70
Fr. et. 700	0.10	0.20	0.30	0.48	0.60	0.70	0.78	0.88
Fr. et. 600	0.10	0.20	0.38	0.56	0.68	0.78	0.90	0.94
Fr. et. 500	0.10	0.28	0.48	0.64	0.74	0.90	1.02	1.12

Fr. et. (fracción etanólica)

CONCLUSIONES

1. La fracción etanólica de la resina de gobernadora, a dosis de 1 000 y 2 000 ppm, logran inhibir el desarrollo de *A. solani*.

2. Después de 8 días de aplicada la resina, comienza a perder efectividad ya que permite el desarrollo del hongo, aunque en bajos niveles.
3. La resina de gobernadora, aun en condiciones refrigerantes, pierde eficiencia (se degrada) conforme pasa el tiempo.
4. Los testigos absolutos y fungicidas se comportan como tales, y el etanólico sólo presenta un desarrollo más lento, aunque también abundante.

BIBLIOGRAFIA

- Campos, L.E., T.J. Mabry y S.F. Tavison. 1979. *Larrea*. Saltillo, México. Centro de Investigaciones de Química Aplicada. Comisión Nacional de Zonas Áridas. 411 pp. (Serie del Desierto, Volumen 2).
- Hernández, F.B. 1979. Evaluación de actividad fungistática de la resina de gobernadora. In: Revisión de las actividades realizadas en el Centro de Investigaciones de Química Aplicada de 1975 a 1978. Saltillo, México. Centro de Investigaciones de Química Aplicada.
- Rodríguez, R.E. 1980. Estudios del efecto inhibitorio de extractos de gobernadora *Larrea tridentata* Cov. en el desarrollo del hongo de la pudrición texana *Phymatotrichum omnivorum* Shear Duggar. Tesis de Maestría. Monterrey, México. Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey. 93 pp.
- Velazquez, V.R. 1981. Evaluación de la actividad fungicida de la resina de gobernadora sobre *Eutypa armeniacae* Hans and Carter. Tesis de Licenciatura. Saltillo, México. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 51 pp.